

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representation of  
The original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**



## P7149608A2: ANTIMICROBIAL AGENT

[View Images \(1 pages\)](#) | [View INPADOC only](#)

JP Japan

TAMURA KOKICHI  
MASUDA KAZUSHI  
YAMAMOTO MASAJI  
MURAKAMI FUMIKAZU  
MIZUTANI KENJI  
TANAKA OSAMU

MARUZEN PHARMACEUT CO LTD

[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)

June 13, 1995 / Sept. 12, 1994

JP1994000242441

A01N 43/90; A01N 65/00;

Oct. 4, 1993 JP1993000269486

**Purpose:** To provide an antimicrobial agent and an antiyeast agent each containing saponin YS separated from Yucca as a main active ingredient, exhibiting a strong antimicrobial activity, useful in the fields of medicines, cosmetics, foods, etc., and capable of being easily used.

**Constitution:** An antimicrobial agent contains one or more kinds of saponins of formula I [R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> are H, methyl (but one of R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> is H, and the other is methyl), or R<sub>1</sub> and R<sub>3</sub> together forms =CH<sub>2</sub>; R is [ $\beta$ -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)] [ $\beta$ -D-xylopyranosyl (1 $\rightarrow$ 3)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl] of formula II (Glc is glucose residue; Xyl is xylose residue)]. The steroid saponin of formula I is isolated from the extract of Yucca, a shrub plant of the Agavaceae, as a raw material. A reaction product obtained by partially hydrolyzing a Yucca extract containing a prostane type steroid saponin or a steroid saponin mixture originated from the Yucca with a mineral acid or a hydrolase is especially preferable. The Yucca extract containing the saponin of formula I is used also as an antiyeast agent.

**COPYRIGHT:** (C)1995,JPO

CHEMABS 123(13)163284T CAN123(13)163284T DERABS C95-248261 DERC95-248261

Ref. 17  
KCC 4742  
Koenig et al.  
10/028,752

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-149608

(43)公開日 平成7年(1995)6月13日

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>A 0 1 N 43/90  
65/00

識別記号

1 0 1

庁内整理番号

A

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数4 F D (全 8 頁)

(21)出願番号 特願平6-242441

(22)出願日 平成6年(1994)9月12日

(31)優先権主張番号 特願平5-269486

(32)優先日 平5(1993)10月4日

(33)優先権主張国 日本(J P)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成6年3月5日  
社団法人日本薬学会発行の「日本薬学会第114年会講演  
要旨集」に発表

(71)出願人 591082421

丸善製薬株式会社

広島県尾道市向東町14703番地の10

(72)発明者 田村 幸吉

広島県尾道市向東町14703-10丸善製薬株  
式会社内

(72)発明者 升田 一志

広島県尾道市向東町14703-10丸善製薬株  
式会社内

(72)発明者 山本 正次

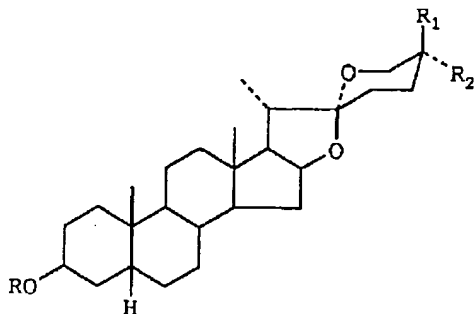
広島県尾道市向東町14703-10丸善製薬株  
式会社内

(74)代理人 弁理士 板井 一雄

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗菌剤

(57)【要約】

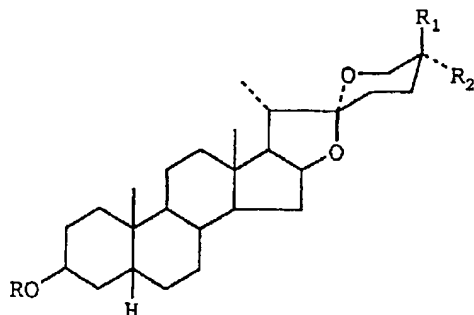
【目的】 ユッカを原料にして、強力かつ広範囲に有効  
な抗菌剤を提供する。【構成】 下記サポニンからなる抗菌剤。式中、R<sub>1</sub>、  
R<sub>2</sub>はHもしくはCH<sub>3</sub>基(但しR<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>の一方がHのと  
き他方はCH<sub>3</sub>基)、または両方で単一の基=CH<sub>2</sub>を示  
す。Rは糖鎖。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記化1で表されるサポニンの1種または2種以上からなる抗菌剤：

【化1】



式中、 $R_1$  および  $R_2$  は水素原子もしくはメチル基（但し  $R_1$ 、 $R_2$  の一方が水素原子のとき他方はメチル基である）、または両方で単一の基  $=CH_2$  を示す。 $R$  は〔 $\beta$ -D-グルコピラノシル(1 $\rightarrow$ 2)〕〔 $\beta$ -D-キシロピラノシル(1 $\rightarrow$ 3)〕- $\beta$ -D-グルコピラノシル基を示す。

【請求項2】 化1で表されるサポニンの1種または2種以上を含有するユッカ由来のステロイドサポニン混合物からなる抗菌剤。

【請求項3】 フロスタン型ステロイドサポニンを含有するユッカ抽出物またはユッカ由来のステロイドサポニン混合物を鉍酸または加水分解酵素により部分加水分解処理して得られた反応生成物よりなる抗菌剤。

【請求項4】 化1で表されるサポニンの1種または2種以上を含有するユッカ抽出物からなる抗酵母剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、医薬品、化粧品、食品等の分野で使用可能な天然物系抗菌剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 微生物類の繁殖による変質や腐敗を起こしやすい医薬品、化粧品、食品等に配合して保存性を向上させるための菌剤としては、従来各種の合成品や天然物由来のものが使用されている。人の口や皮膚を經由して体内に入ることが多い上記用途の抗菌剤としては、合成品よりも安全性の高い天然物由来のものが好ましい。また、天然物由来のものも、単独でなるべく広範囲の微生物に対して効果があり、しかも添加対象物の色、匂い、味、物性等には悪影響を及ぼさないものであることが望まれる。しかしながら、細菌類に対して有効な天然物系抗菌剤は幾つか提供されているが、真菌類とくに酵母に対して優れた活性を示す天然物系抗菌剤は、ほとんど無い。

【0003】 このような要望に応えるため、本発明者らは多くの天然物成分について抗菌活性を調べた結果、リュウゼツラン科の低木植物・ユッカ (Yucca) にきわめ

2

て優れた抗菌活性を有する物質が含まれていることを見いだした。

【0004】 ユッカおよびその抽出物の抗菌活性に関しては、従来、限られた範囲での有効性が知られている。たとえば特開平4-74105号公報には、ユッカとその抽出物が食品変質の原因となる多くの細菌類に対して有効な抗菌剤となることが記載されている。しかしながら、細菌類に対するユッカ抽出物の抗菌活性は弱く、低濃度ではほとんど効果がない。そして、ユッカはもちろん抽出物にも特有の色、臭気および味があるから、実用上十分な抗菌作用を期待して多量に添加すると添加対象物の品質に悪影響を及ぼす。そこで特開平4-278070号の発明では、脂肪酸モノグリセリドを併用することにより、ユッカ抽出物の静菌作用を強化している。また特公平5-7361号の発明では、ユッカ樹液に有機酸を配合することにより殺菌効果の向上を図っている。しかしながら、これら助剤を併用する方法は、併用効果がそれほど顕著でないばかりか、併用された助剤の存在が抗菌剤の用途を制限するという問題点があった。なお、従来確認されているユッカ抽出物の抗菌作用はすべて細菌類に対するものであって、酵母に対する作用は知られていない。

【0005】

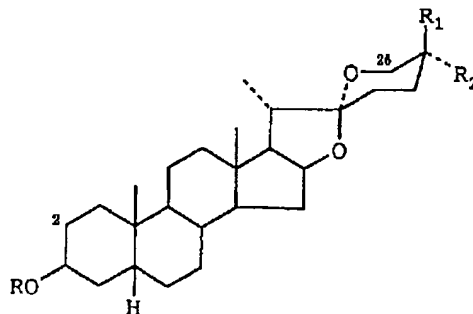
【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、ユッカが含有する抗菌性物質に関する前記本発明者らによる知見に基づき、ユッカを原料とする従来の抗菌剤よりも強力かつ広範囲に有効で使い易い抗菌剤を提供することにある。本発明の他の目的は、酵母に対して強力な抗菌作用を示す天然物系抗菌剤を提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】 本発明は、本発明者らによりユッカ抽出物から初めて単離され且つ優れた抗菌作用が確認された化2のステロイドサポニン（以下、サポニンYSという）より主としてなる抗菌剤を提供するものである。

【0007】

【化2】



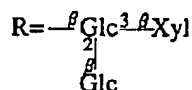
【0008】 式中、 $R_1$  および  $R_2$  は水素原子もしくはメチル基（但し  $R_1$ 、 $R_2$  の一方が水素原子のとき他方はメチル基である）、または両方で単一の基  $=CH_2$  を示

3

す。Rは〔β-D-グルコピラノシル(1→2)〕〔β-D-キシロピラノシル(1→3)〕-β-D-グルコピラノシル基(化3)を示す。

【0009】

【化3】



式中、Glcはグルコース残基、Xylはキシロース残基を示す。

【0010】ユッカ抽出物が含有するステロイドサポニン<sub>10</sub>は、量は少ないがサポニンYS以外にも多数あり、それらの中にも抗菌作用を示すものが多い。したがって、ユッカ抽出物から分離されサポニンYSを含有するステロイドサポニン混合物もまた、単なるユッカ抽出物と比べるとはるかに強力な抗菌剤となる。

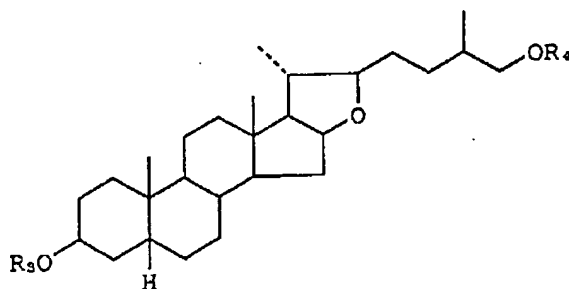
【0011】サポニンYSは、特に酵母に対して優れた抗菌作用を示す。このため、サポニンYS含有率が低く細菌類に対してはほとんど効果がないユッカ抽出物でも、酵母に対しては実用性ある抗菌作用を示すことがわかった。本発明は、かかる知見に基づき、サポニンYSを含有するユッカ抽出物からなる抗酵母剤をも提供するものである(一般的には酵母の増殖阻止に有効なものも“抗菌剤”と呼ぶのが普通であるが、この明細書では、酵母には有効でも細菌類には事実上効果がなく、したがって酵母、細菌など多種類の微生物が関与する食品等の変質・腐敗の防止には細菌類に有効な他の抗菌剤との併\*

\*用を必要とするものを、その抗菌作用が限定されることを明確にし且つ包括的な概念である抗菌剤と区別するために、特に“抗酵母剤”という)。

【0012】本発明は、さらに、ユッカ抽出物に加水分解処理を施すことによりその抗菌活性を高めてなる新規な抗菌剤を提供するものである。すなわち、ユッカ抽出物にはステロイドのF環が開き26位炭素原子にもグルコース等の糖もしくは糖鎖が結合しているフロスタン型サポニン(化4)も多量に存在することが確認されたが、フロスタン型サポニンは、通常、鉍酸または加水分解酵素で処理すると26位炭素原子と糖鎖の間の結合が加水分解されると同時にF環が形成される反応を生じ、スピロスタン型サポニンに移行することが知られている。ユッカ抽出物に上記加水分解処理を施すとサポニンYSの量が顕著に増加するので、ユッカ抽出物が含有するフロスタン型サポニンの多くはスピロスタン型サポニンであるサポニンYSの前駆体と推定された。ただし、フロスタン型サポニンは、サポニンYSの前駆体であるものも、きわめて弱い抗菌活性しか示さない。したがって、フロスタン型ステロイドサポニンを含有するユッカ抽出物またはユッカ由来のステロイドサポニン混合物を鉍酸または加水分解酵素により部分加水分解処理して得られた反応生成物は、サポニンYSを高率で含有する強力な抗菌剤となる。

【0013】

【化4】



式中、R<sub>3</sub>およびR<sub>4</sub>は糖鎖を示す。

【0014】以下、本発明の抗菌剤および抗酵母剤を製造する方法につき詳述する。原料のユッカとしては、ユッカ属植物のほとんどが使用可能であるが、入手が比較的容易で原料として適当なものは、*Yucca arizonica*、*Yucca brevifolia*、*Yucca elata*、*Yucca intermedia*、*Yucca mohavensis*、*Yucca schidigera* (モハヴユッカ)、*Yucca peninsularis*、*Yucca schottii*、*Yucca whipplei* 等である。

【0015】ユッカは、地下部、地上部(種子を含む)とも、抽出原料として使用することができる。原料は適当な大きさに粉碎してから、水、親水性有機溶媒またはこれらの混合物で抽出処理する。抽出用の親水性有機溶媒としては、メタノール、エタノール等の低級アルコー

ル；グリセリン、1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコール等の多価アルコール；アセトン等が好ましい。抽出方法は特に制限がなく、簡単には、常温ないし沸騰点付近の温度に維持した溶媒中に原料を浸漬しておけばよい。溶剤抽出によらずにステロイドサポニン含有エキスを得る方法として、新鮮な植物体を原料にして搾汁する方法もある。

【0016】得られたユッカ抽出物は、そのまま、あるいは簡単な精製を施して、本発明の抗酵母剤として使用することができる。ステロイドサポニンを濃縮もしくは単離するには、上記ユッカ抽出物を液-液分配抽出、各種クロマトグラフィー、膜分離等、サポニンを濃縮するのに有効な精製手段を適宜採用し、望ましくはサポニン含有率が5%以上のサポニン画分を採取する。得られた

5

サポニン混合物は、そのまま十分抗菌剤として使用可能であるが、さらに精製を進めてサポニンY Sの含有率を高めるほど、より活性が強く、着色やにおいも少ない抗菌剤を得ることができる。

【0017】ユッカ抽出物またはそれから得られたサポニン混合物を加水分解処理したものを使用する場合は、処理対象物の水溶液に対してその固形分当たり約1~100重量%の加水分解酵素（たとえばナリンギナーゼ、 $\beta$ -グルコシダーゼ、バクチナーゼ、ヘミセルラーゼ、セルラーゼ等）を加え、用いる酵素の至適pHにpHを調整し、約30~70℃で1~72時間反応させる。これによりフロスタン型サポニンはスピロスタン型サポニンに変換され、サポニンY Sの含有量が大幅に増加する。その後、必要に応じて中和したのち、濃縮乾燥して本発明の抗菌剤を得る。

【0018】鉱酸を用いて加水分解させる場合は、塩酸、硫酸等の鉱酸の約0.1~10%水溶液中で、室温または50~80℃に1~48時間保持する。その後、酸を中和し、濃縮乾固する。

【0019】サポニンY Sを有効成分とする本発明の抗菌剤および抗酵母剤は、アルカリ性よりはpH5前後の弱酸性において活性が強く、中性での活性に比べても約2倍の強さを示す。水溶液は、単なるユッカ抽出物のそれよりも着色が少なく、澄明性にもすぐれている。

【0020】本発明による抗菌剤は、黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）、枯草菌（*Bacillus subtilis*）等の細菌類だけでなく、酵母、カビ等の真菌類にも優れた作用を示す。

【0021】本発明の抗菌剤および抗酵母剤は、医薬品、化粧品（医薬部外品を含む）、食品等の有効成分または保存性向上剤として、広い分野で利用可能である。本発明の抗菌剤および抗酵母剤の有効成分であるサポニンY Sは安定性がよく溶解性も良い化合物であるから、これを配合して医薬品、食品等を製造するのに格別の困難はない。

【0022】本発明の抗菌剤または抗酵母剤を食品の保存性向上のために使用する場合、その食品の製造原料または製造工程の任意の段階で、混入、塗布、噴霧、浸漬等の方法により、食品に添加するか付着させる。本発明の抗菌剤および抗酵母剤の好適使用量は、その組成、剤形、添加対象物の種類等によって異なるが、一般的には、添加対象物中での濃度がサポニンY Sとして約0.0001~0.1重量%になるように使用することが望ましい。

【0023】本発明の抗菌剤および抗酵母剤は、その用途に応じて、粉剤、粒剤、乳剤、水和剤等、任意の剤形で利用に供することができる。その場合、他の抗菌剤、

6

保存料その他任意の成分と共に製剤化しても差支えない。併用可能なものの例を挙げると、合成品では安息香酸またはその塩類、オルトフェニルフェノールまたはその塩類、ジフェニル、ソルビン酸またはその塩類、チアベンダゾール、デヒドロ酢酸またはその塩類、パラオキシ安息香酸アルキルエステル類、プロピオン酸またはその塩類、さらし粉、次亜塩素酸またはその塩類等があり、天然物由来のものでは、アニスエキス、エソウコギエキス、カワラヨモギエキス、しらこたん白、ヒノキエキス、ホオノキエキス、 $\epsilon$ -ポリリジン、レンギョウエキス、カンゾウエキス、クローブエキス、セージエキス、ピメンタエキス、プロポリスエキス、ペパーエキス、ローズマリーエキス、アチートエキス、イチジク葉エキス、オレガノエキス、カルダモンエキス、キャラウェイエキス、柑橘種子エキス、クミンエキス、クランベリーエキス、クワエキス、ケイヒエキス、コウジ酸、ササエキス、サフランエキス、サンショウエキス、シソエキス、シナモンエキス、ショウガエキス、（ヤナギ）タデエキス、チャエキス、タイムエキス、ターメリックエキス、ダイズエキス、トウガラシエキス、ナツメグエキス、ニンニクエキス、バジルエキス、ハッカエキス、バニラエキス、パプリカエキス、ブドウ果皮エキス、フェネルエキス、ペニコウジ分解物、ペパーミントエキス、ホコッシエキス、ホップエキス、マジョラムエキス、メースエキス、モウソウチクエキス、モミガラエキス、ユーカリエキス、ワサビエキス、リゾチーム、ローレルエキス等がある。

【0024】

【実施例】

製造実施例1

ユッカ・シジゲラ（*Yucca schidigera*）の根茎部1kgに90%メタノール10リットルを加え、沸騰水浴中で2時間、還流下に加熱した。得られた抽出液を減圧下に濃縮したのち乾燥して、ユッカ抽出物280gを得た。このユッカ抽出物100gを水1リットルに溶解し、3リットルの塩化メチレン、および3リットルのn-ブタノールを順次用いて分配抽出を行い、塩化メチレン可溶性画分3g、n-ブタノール可溶性画分26gを得た。抽出されずに水層に残った固形分（分配抽出残渣）は71gであった。

【0025】次いで上記n-ブタノール可溶性画分10gをシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶媒系：クロロホルム/メタノール/水=40/10/1）およびODSカラムクロマトグラフィー（溶媒系：アセトニトリル/水=1/1）により精製し、下記3種類のサポニンY Sを得た。

サポニンY S	化1におけるR <sub>1</sub>	化1におけるR <sub>2</sub>	収量 (mg)
Y S-1	R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> の両方で	=CH <sub>2</sub>	860
Y S-2 S	CH <sub>3</sub>	H	2320

7

YS-2R H

【0026】さらに、上記クロマトグラフィーにより分離された残りの部分にも、量は少ないが類似化学構造のサポニンの存在が認められたので、構造確認を行なった。その結果、下記5種類のステロイドサポニンが単離・確認された。

サポニン (略称)	収量 (mg)
YS-3	260
YS-4	450
YS-5	320
YS-6S	480
YS-6R	160

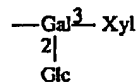
【0027】これらのサポニンの化学構造は次のとおりである。

YS-3：化2においてRが下記化5で示されるもの。アグリコン部分は2位が水酸基で置換されているほかは前記YS-1と同一。

YS-4：化2においてRが下記化5で示されるもの。アグリコン部分は2位が水酸基で置換されているほかは前記YS-2Sと同一。

【0028】

【化5】



式中、Gal はガラクトース残基、Glc はグルコース残基、Xyl はキシロース残基を示す。

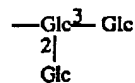
【0029】YS-5：化2においてRが下記化6で示されるもの。アグリコン部分は前記YS-1と同一。

YS-6S：化2においてRが下記化6で示されるもの。アグリコン部分は前記YS-2Sと同一。

YS-6R：化2においてRが下記化6で示されるもの。アグリコン部分は前記YS-2Rと同一。

【0030】

【化6】



式中、Glc はグルコース残基を示す。

8

CH<sub>3</sub> 770

【0031】製造実施例2

ユッカ・ブレブフォリア (Yucca brevifolia) の根茎部1kgに90%メタノール10リットルを加え、沸騰水浴中で2時間、還流下に加熱した。得られた抽出液を減圧下に濃縮したのち乾燥して、ユッカ抽出物250gを得た。このユッカ抽出物100gを水1リットルに溶解し、ダイヤイオンHP-20樹脂 (三菱化成；3リットル) のカラムに通液した。次いで水および濃度20%、40%、60%、80%および100%のメタノール各1リットルを順次通液して、水溶出画分 (42.1g)、20%メタノール溶出画分 (19.1g)、40%メタノール溶出画分 (9.4g)、60%メタノール溶出画分 (5.4g)、80%メタノール溶出画分 (11.5g)、100%メタノール溶出画分 (7.7g) を得た。

【0032】製造実施例3

実施例1で得られたユッカの90%メタノール抽出物のn-ブタノール可溶性画分10gを100mlの酢酸緩衝液 (pH4.0) に溶解し、その10mlに下記加水分解酵素100mgを加えて45℃で16時間反応させた。

【0033】① β-グルコシダーゼ

② ヘスベリジナーゼ

③ ナリンギナーゼ

④ スクララーゼ

⑤ ペクチナーゼ

⑥ タンナーゼ

⑦ ヘミセルラーゼ

⑧ セルラーゼ

【0034】反応終了後、遠心分離し、不溶物を除いた上清を減圧下に濃縮、乾燥した。上記各例により得られた分画物または反応生成物のステロイドサポニン含有率を表1および表2に示す。

【0035】

【表1】ステロイドサポニン含有率 (重量%)

YS-1 YS-2S YS-2R YS-3 YS-4 YS-5 YS-6S YS-6R

## 製造実施例1

90%メタノール抽出物	0.3	1.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.1	0
塩化メチレン可溶性画分	0	0	0	0	0	0	0	0
n-ブタノール可溶性画分	3.4	10.3	3.1	1.0	1.8	1.3	1.9	0.6
分配抽出残渣	0.1	0.3	0.2	0	0	0	0	0

## 製造実施例2

90%メタノール抽出物	0.3	1.0	0.3	0.3	0.1	0.2	0.2	0.1
HP-20樹脂カラム処理								
水溶出画分	0	0	0	0	0	0	0	0
20%メタノール溶出画分	0	0	0	0	0	0	0	0

9	10						
40%メタノール溶出画分	0	0	0	0	0	0	0
60%メタノール溶出画分	0.1	0.3	0.1	0	0	0	0
80%メタノール溶出画分	1.9	7.1	2.0	0.6	1.0	0.7	1.0
100%メタノール溶出画分	4.7	14.1	4.2	1.4	2.4	1.8	2.5

【0036】

\*ニン含有率(重量%)

【表2】 製造実施例3による処理物のステロイドサポ\*

	YS-1	YS-2S	YS-2R	YS-3	YS-4	YS-5	YS-6S	YS-6R
<u>製造実施例3</u>								
β-グルコシダーゼ処理物	6.6	20.2	6.7	2.2	3.3	2.3	3.4	1.3
ヘスペリジナーゼ処理物	6.6	20.2	6.7	2.2	3.3	2.3	3.4	1.3
ナリンギナーゼ処理物	8.6	32.8	9.1	2.9	4.3	2.9	4.5	1.7
スクラーゼ処理物	6.6	20.2	6.7	2.2	4.1	2.3	3.4	1.3
ペクチナーゼ処理物	7.8	29.1	8.5	2.6	3.9	2.8	4.0	1.7
タンナーゼ処理物	6.6	20.2	6.7	2.4	3.7	2.4	3.9	1.6
ヘミセルラーゼ処理物	7.8	29.9	8.8	2.6	3.9	2.8	4.0	1.7
セルラーゼ処理物	7.7	30.2	8.4	2.5	3.8	2.7	4.0	1.7

【0037】試験例1

各製造実施例の各画分または反応生成物について、下記の真菌類(酵母4種類、カビ2種類)に対する抗菌活性を、ポテトデキストロース寒天培地を用いた寒天培地希釈法における最小生育阻止濃度・MICを求めることにより判定した。

A: *Saccharomyces cerevisiae*B: *Candida albicans*C: *Hansenula anomala*D: *Pichia nakazawae*※E: *Mucor pusillus*F: *Rhizopus nigricans*

【0038】なお、培養は温度30℃で2日間行い、生育の有無は肉眼で判定した。結果を表3および表4に示す。表中の数値はMIC(μg/ml)であり、抗菌活性が強いほどこの数値は小さい。“X”は、濃度1000μg/mlでも菌の生育が認められたことを示す。

【0039】

【表3】 最小生育阻止濃度・MIC

	※					
	菌A	菌B	菌C	菌D	菌E	菌F
<u>製造実施例1</u>						
90%メタノール抽出物	500	500	250	250	250	250
塩化メチレン可溶性画分	X	X	X	X	X	X
n-ブタノール可溶性画分	62.5	62.5	31.3	31.3	31.3	31.3
分配抽出残渣	X	X	X	X	X	X
YS-1	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25
YS-2S	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13
YS-2R	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13
YS-3	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5
YS-4	31.3	31.3	31.3	31.3	31.3	31.3
YS-5	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25
YS-6S	31.3	31.3	31.3	31.3	31.3	31.3
YS-6R	31.3	31.3	31.3	31.3	31.3	31.3
<u>製造実施例2</u>						
90%メタノール抽出物	500	500	250	250	250	250
HP-20樹脂カラム処理						
水溶出画分	X	X	X	X	X	X
20%メタノール溶出画分	X	X	X	X	X	X
40%メタノール溶出画分	X	X	X	X	X	X
60%メタノール溶出画分	X	X	X	X	X	X
80%メタノール溶出画分	62.5	62.5	31.3	31.3	31.3	31.3
100%メタノール溶出画分	62.5	62.5	31.3	31.3	31.3	31.3

【0040】

50 【表4】 製造実施例3による処理物の最小生育阻止濃



度・MIC

	菌A	菌B	菌C	菌D	菌E	菌F
β-グルコシダーゼ処理物	62.5	62.5	31.3	31.3	31.3	31.3
ヘスペリジナーゼ処理物	62.5	62.5	31.3	31.3	31.3	31.3
ナリンギナーゼ処理物	31.3	31.3	15.6	15.6	15.6	15.6
スクラーゼ処理物	62.5	62.5	31.3	31.3	31.3	31.3
ペクチナーゼ処理物	31.3	31.3	15.6	15.6	15.6	15.6
タンナーゼ処理物	31.3	31.3	15.6	15.6	15.6	15.6
ヘミセルラーゼ処理物	31.3	31.3	15.6	15.6	15.6	15.6
セルラーゼ処理物	31.3	31.3	15.6	15.6	15.6	15.6

## 【0041】試験例2

製造実施例2で得られた90%メタノール抽出物およびその分画物の細菌類に対する抗菌活性を下記試験法により調べた。

試験法：試料を0.1%添加した乾燥ブイヨン（日水製薬）に一定数の黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）

を接種し、37℃で7日間培養する。その間、3回、培地中の菌数を数える。比較のため、試料無添加の培地により同様の培養試験を行う。試験結果を表5に示す。

## 【0042】

【表5】 培養中の菌数変化

培地添加物	培養開始時	1日目	3日目	7日目
無添加	$2.1 \times 10^4$	$3.2 \times 10^5$	$6.9 \times 10^8$	$9.6 \times 10^9$
90%メタノール抽出物	$2.1 \times 10^4$	$2.5 \times 10^5$	$3.8 \times 10^6$	$4.3 \times 10^8$
HP-20樹脂カラム処理				
水溶出画分	$2.1 \times 10^4$	$2.5 \times 10^5$	$3.8 \times 10^8$	$4.3 \times 10^9$
20%メタノール溶出画分	$2.1 \times 10^4$	$3.0 \times 10^5$	$6.2 \times 10^8$	$9.3 \times 10^9$
40%メタノール溶出画分	$2.1 \times 10^4$	$3.1 \times 10^5$	$7.3 \times 10^8$	$9.7 \times 10^9$
60%メタノール溶出画分	$2.1 \times 10^4$	$2.8 \times 10^5$	$6.0 \times 10^8$	$8.1 \times 10^9$
80%メタノール溶出画分	$2.1 \times 10^4$	$2.2 \times 10^4$	$1.1 \times 10^5$	$2.1 \times 10^6$
100%メタノール溶出画分	$2.1 \times 10^4$	$2.2 \times 10^4$	$4.6 \times 10^4$	$1.1 \times 10^5$

【0043】また、製造実施例2で得られた90%メタノール抽出物のHP-20樹脂カラム処理による100%メタノール溶出画分について、酵母に対する抗菌活性の熱安定性および光安定性を調べるため、下記の試験を行った。

熱安定性試験：試料の1%水溶液2mlを小試験管に入れ、80℃の恒温槽中または沸騰水中で加熱処理する。

【0044】光安定性試験：試料の1%水溶液2mlを小試験管に入れ、蛍光灯の光を照度6000lux、温度30℃で3時間照射する。処理後の抗菌活性（前出MIC）を処理前の抗菌活性と比べたときの活性残存率は表6のとおりであって、処理による活性低下は全く認められず、本発明の抗菌剤がすぐれた熱安定性および光安定性を有することが確認された。

## 【0045】

【表6】

処理	活性残存率(%)
80℃・30分加熱	100
" 60分加熱	100
" 120分加熱	100
沸騰水中30分加熱	100
" 60分加熱	100
" 90分加熱	100
蛍光灯照射・3時間	100

## 【0046】

【発明の効果】上述のように、ユッカから分離されたサポニンYSを主たる有効成分とする本発明の抗菌剤は、細菌類、酵母類およびカビ類に対して単なるユッカ抽出物とは比較にならないほど強力な抗菌活性を示す。また、サポニンYS含有率が低いユッカ抽出物からなる抗酵母剤も、酵母の増殖阻止には十分有効な抗菌剤となる。したがって、完全滅菌が困難な食品等に本発明の抗菌剤もしくは抗酵母剤を必要に応じて他の天然物系抗菌剤と組み合わせて使用すれば、安全な天然物系抗菌剤のみによる大幅な保存性向上が可能になる。

フロントページの続き

(72)発明者 村上 文和  
広島県尾道市向東町14703-10丸善製薬株  
式会社内

(72)発明者 水谷 健二  
広島県尾道市向東町14703-10丸善製薬株  
式会社内

(72)発明者 田中 治  
広島県尾道市向東町14703-10丸善製薬株  
式会社内